

心筋虚血再灌流障害を抑制するセボフルランの至適濃度 — *in vivo* ウサギモデルにおける検討—

白 濱 淳 今 泉 う の 板 倉 紹 子 古 屋 宗 孝
有 坂 博 史 吉 田 和 市

神奈川歯科大学大学院麻酔科学講座
(受付：2014年2月26日)

Optimal Sevoflurane Concentration for Attenuating Myocardial Ischemia/reperfusion Injury —A Study in *in vivo* Rabbit Model—

Jun SHIRAHAMA, Uno IMAIZUMI, Shoko ITAKURA, Munetaka FURUYA,
Hirofumi ARISAKA and Kazu-ichi YOSHIDA

Department of Anesthesiology, Kanagawa Dental University, School of Dentistry
82, Inaoka-cho, Yokosuka, Kanagawa, 238-8580, Japan

Abstract

This study was designed to investigate the cardioprotective effects of different concentrations of sevoflurane exposure on myocardial ischemia/reperfusion injury in *in vivo* rabbit hearts.

Rabbits were subjected to regional ischemia by 30 min of the left anterior descending artery (LAD) occlusion followed by 180 min of reperfusion under general anesthesia with ketamine and xylazine infusion. The animals were randomly assigned to the following 5 treatment groups: a control group, a continuous infusion of 0.5% sevoflurane group, a 1.0% sevoflurane group, a 1.5% sevoflurane group and a 2.0% sevoflurane group. Sevoflurane infusion group animals received continuous exposure of sevoflurane from 5 minutes prior to ischemia up to the end of reperfusion. At the end of the 180 min reperfusion period, risk area and infarct size were measured.

Heart Rate, mean arterial blood pressure, and rate pressure product revealed no significant difference among all the groups tested. The risk area showed no significant differences among all the groups. Mean infarct size of the risk area was significantly less in 1.0% sevoflurane group and 1.5% sevoflurane group than a control group. The incidence and duration of arrhythmias during myocardial ischemia was no significant difference among all the groups. The incidence of arrhythmias during reperfusion was significantly less in 1.5% and 2.0% sevoflurane group than a control group. The duration of arrhythmias during reperfusion was significantly less in all the sevoflurane treatment groups compared with a control group.

These results suggest that 1.0% and 1.5% sevoflurane given before coronary artery occlusion has an infarct size limiting effect in the myocardium, and 1.5% and 2.0% sevoflurane has an antiarrhythmic effect during reperfusion in the rabbit heart. It was suggested that the optimal concentration of sevoflurane to elicit the most potent cardioprotection is 1.5% in *in vivo* rabbit model.

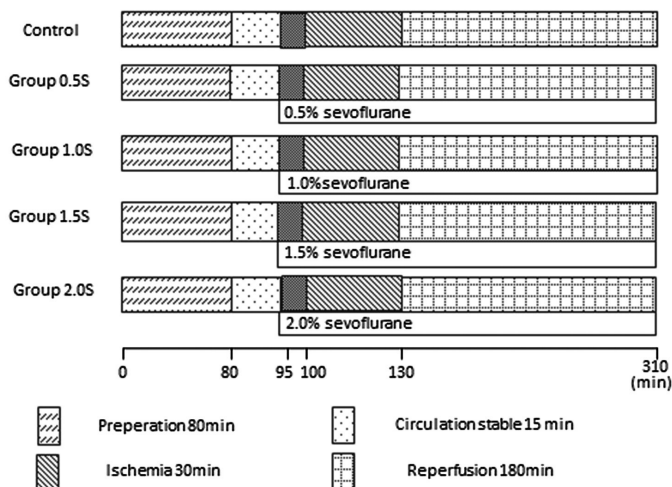


図1 Schematic diagram of the protocol

Control: a control group (n=9)
 Group 0.5S: a continuous infusion of 0.5% sevoflurane group (n=8)
 Group 1.0S: a continuous infusion of 1.0% sevoflurane group (n=9)
 Group 1.5S: a continuous infusion of 1.5% sevoflurane group (n=8)
 Group 2.0S: a continuous infusion of 2.0% sevoflurane group (n=7)

緒 言

近年、虚血性心疾患を伴う患者の全身麻酔症例や虚血再灌流を伴う手術の増加とともに虚血再灌流障害に関する研究が数多く報告されている。虚血再灌流障害とは虚血状態に置かれた心筋組織が急激な再酸素化に伴い、組織障害がさらに促進する現象である。臨床的には心停止後に血流が再開された場合、異型狭心症でスパズムが解除された場合、PCI（経皮的冠動脈インターベンション）、CABG（冠動脈バイパス手術）で血流が再開された場合などに起こる。その機序としてはATP代謝の破綻¹⁾、Ca²⁺の過負荷²⁾、活性酸素などの関与³⁾が報告されている。心筋虚血再灌流障害に対する心筋保護に関しては、本格的な虚血前の短時間の頻回虚血、セボフルランなどの吸入麻酔薬や薬剤によるプレコンディショニング⁴⁻⁶⁾およびポストコンディショニング⁷⁻⁹⁾が報告されている。また、セボフルラン、イソフルランなどの揮発性吸入麻酔薬そのものが心筋に保護的に作用することが明らかになっている¹⁰⁻¹³⁾。しかしこれらの吸入麻酔薬の投与方法に関しては研究者によりさまざまであり、ウサギ*in vivo*モデルでセボフルランの投与濃度を詳細に検討したものは少ない。本研究ではケタミン/ザイラジン（以下K/X）麻酔を施した*in vivo*ウサギ心筋再灌流モデルを用い、種々の濃度のセボフルランの持続投与による心筋保護効果を循環動態、虚血域、心筋梗塞サイズ、虚血・再

灌流不整脈の発生率と発生時間の累計を指標として詳細に検討した。

実験材料および方法

本研究は神奈川歯科大学動物実験指針に従い以下の手順で行った。

1. 外科処置

ウサギ（New Zealand White, 2.5-3.2 kg, 雄）41羽を対象とし、無作為に5群に分類し、ケタミン 35 mg/kg, ザイラジン 5 mg/kgの混合液（K/X）を用いたコントロール群（n=9）、さらに虚血5分前から再灌流終了まで0.5%セボフルランを投与した群（0.5S群:n=8）、1.0%セボフルランを投与した群（1.0S群:n=9）、1.5%セボフルランを投与した群（1.5S群:n=8）、2.0%セボフルランを投与した群（2.0S群:n=7）とした。

麻酔導入はK/Xを筋肉内投与し、全身麻酔下に気管切開し気管内チューブ（Sheridan ID3.5 mm）を挿入した。麻酔の維持は5群ともにK/Xの静脈内持続投与（ケタミン 35 mg/kg/h, ザイラジン 5 mg/kg/h）にて行った。本研究では動物愛護・倫理の観点から Animal Care & Use Program in Duke University & Medical Centerに従って、基礎麻酔としてK/Xを用いた。また、筋弛緩薬は使用しなかったが、外科処置中にウサギの逃避行動は見られなかった。換気は動物用人工呼吸器（PRO-45Va, アコマ）と動物用麻酔器（ANS-5000A, アコマ）を用い空気で調節呼吸を行い、必要に応じて純

表1 Hemodynamics during ischemia and reperfusion

		pre ischemia	ischemia 29min	reperfusion 30min	reperfusion 60min
HR (beats/min)	Control	161.9±5.6	180.6±7.4	170.1±5.0	164.7±4.4
	Group 0.5S	170.0±8.4	176.9±3.8	171.3±4.9	168.1±4.7
	Group 1.0S	175.2±5.9	180.7±3.7	174.7±3.9	170.9±4.4
	Group 1.5S	180.6±6.5	192.1±6.6	185.3±8.2	176.8±6.8
	Group 2.0S	179.5±5.8	189.3±9.4	179.7±6.1	171.3±6.8
MAP (mmHg)	Control	68.0±3.9	65.2±2.7	66.3±2.2	67.6±3.6
	Group 0.5S	69.4±2.4	65.6±1.7	65.3±1.4	65.8±2.3
	Group 1.0S	73.0±2.4	68.9±1.3	67.8±1.3	68.4±1.2
	Group 1.5S	66.0±4.1	63.1±3.5	64.6±2.2	63.0±2.6
	Group 2.0S	65.7±2.7	62.4±2.3	62.8±1.6	61.2±2.3
RPP (mmHg/min)	Control	14114.1±879.7	14151.3±500.0	13844.8±472.3	13302.8±484.2
	Group 0.5S	14439.9±840.0	13873.3±794.0	13730.4±826.4	13461.8±802.8
	Group 1.0S	15456.1±544.4	15034.4±350.3	14820.3±447.9	14585.2±462.7
	Group 1.5S	15996.9±1127.7	15683.1±1036.8	15211.8±936.6	15078.3±1000.3
	Group 2.0S	14764.3±775.2	14438.1±1021.4	13587.6±592.3	13614.8±478.8

HR: heart rate

MAP: mean arterial blood pressure

RPP: rate pressure product

HR, MAP and RPP were not significantly different among groups.

酸素を加えた。換気数は25～30回/分に調節し、呼吸ガスモニター（カブノックス、コーリン）を用い終末呼吸炭酸ガス分圧が35～45 mmHgになるように、さらに動脈血液ガス分析によりPaO₂>100 mmHg, PaCO₂: 35 mmHg～45 mmHg, pH:7.35～7.45, Base Excess: -3～+3になるように換気条件を調節した。血圧は左頸動脈にポリエチレンカテーテルを留置し血圧トランスデューサー（TP-400T, 日本光電）を介して測定した。体温は加温パッドシステム（T/PUMP, IMI）を用い直腸温を37.5～38.5℃に維持した。輸液は左頸静脈に留置したポリエチレンカテーテルから生理食塩液を15 ml/hで実験終了まで持続投与した。また再灌流時の血栓防止のために500 units/hのヘパリンを持続点滴静脈内投与した。

開胸は左第4肋間から行い心嚢膜を切開し、心臓を露出させた。針付絹糸（CR13-50クロブレード、夏目）を房室溝と心尖の中間線上の左冠状動脈前下行枝（以下LAD）の周りに一周させ、その絹糸の両端を内径2 mm, 長さ2.5 cmのビニールチューブに通して結紮器を作成し、結紮による急性心筋梗塞モデルを作成した。虚血は結紮器の糸を牽引し止血鉗子でビニールチューブを固定することにより行い、LADの閉塞は局所のチアノーゼ、心電図上STの変化を指標として確認した。

2. 実験プロトコール

全ての実験群で循環動態を安定させるために外科手術後15分間放置し、実験操作に先行し循環動態のコントロール値を測定した。その後30分間の虚血に引き続き、180分間の再灌流（虚血再灌流）を行った。

0.5S群, 1.0S群, 1.5S群, 2.0S群においては虚血5分前から再灌流終了までセボフルランを持続投与した（図1）。

虚血域を同定するためにLADを再結紮し10%エバンズブルー（E2129, シグマ）を頸静脈より投与して虚血部位と非虚血部位に明らかな境界ができるのを視認し、再結紮したまま、直ちに心臓を摘出し凍結させた。

3. 循環動態の測定

循環動態、心電図、直腸温の測定および記録は生体情報モニター（ライフスコープ11, 日本光電）を使用し、心拍数、収縮期血圧、拡張期血圧、平均血圧、直腸温を測定した。血圧の測定ポイントは虚血直前をベースラインとし、虚血29分後（再灌流1分前）、再灌流30分後、60分後とした。心電図は第II誘導で持続的にモニタリングし、不整脈発生時間の累計と発生率を算出した。虚血不整脈に関しては虚血30分間に発生する不整脈を、再灌流不整脈に関しては再灌流後20分以内に発生する不整脈を対象とした。また本研究ではすべての群で、LADの結紮により心室細動（以下Vf）

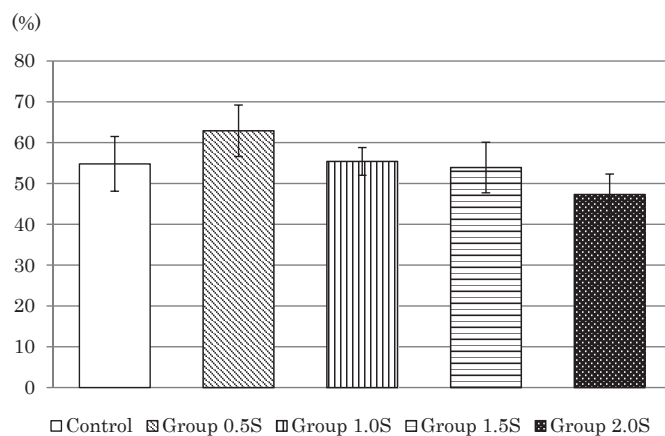


図2 R/L (Risk area / Left ventricle) value (%)

The figure shows R/L value (%), which means the risk area expressed as percentage of left ventricle. Data are expressed as mean \pm SEM. Risk area is ischemic area induced by 30 min of LAD occlusion. Risk area revealed no significant difference among all groups, suggesting that the changes in the infarct size observed among the groups did not depend on R/L.

Control: a control group (n=9)

Group 0.5S: a continuous infusion of 0.5% sevoflurane group (n=8)

Group 1.0S: a continuous infusion of 1.0% sevoflurane group (n=9)

Group 1.5S: a continuous infusion of 1.5% sevoflurane group (n=8)

Group 2.0S: a continuous infusion of 2.0% sevoflurane group (n=7)

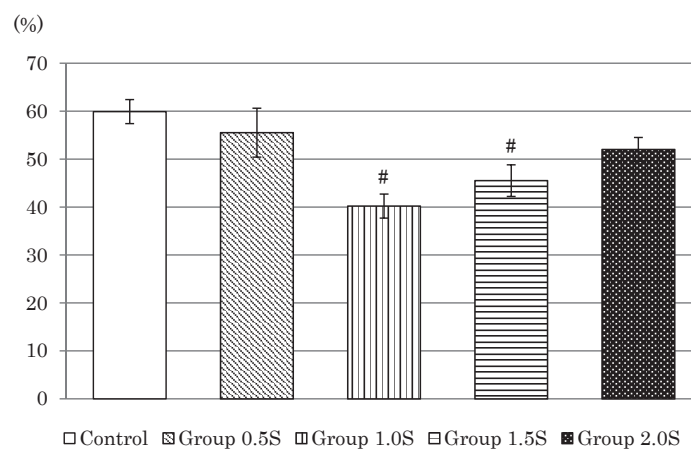


図3 I/R (Infarct size / Risk area) value (%)

The figure shows I/R value (%), which means the infarct size expressed as percentage of risk area. Data are expressed as mean \pm SEM.

Significantly different ($P < 0.05$) from Group Control

Control: a control group (n=9)

Group 0.5S: a continuous infusion of 0.5% sevoflurane group (n=8)

Group 1.0S: a continuous infusion of 1.0% sevoflurane group (n=9)

Group 1.5S: a continuous infusion of 1.5% sevoflurane group (n=8)

Group 2.0S: a continuous infusion of 2.0% sevoflurane group (n=7)

が発生したものはなかった。

4. 虚血域/左心室, 心筋梗塞サイズ/虚血域の計測

凍結した摘出心臓は2 mm厚にスライスし, その切片を37°C, pH 7.4に調整した1% 2,3,5-トリフェニルテ

トラゾリウムクロライド (TTC溶液) に浸漬し染色した。なお, 虚血域は冠動脈の結紮により虚血に陥った範囲で, その中で心筋壊死になり, TTC溶液で染色されない部分を心筋梗塞域とした。切片の心筋梗塞

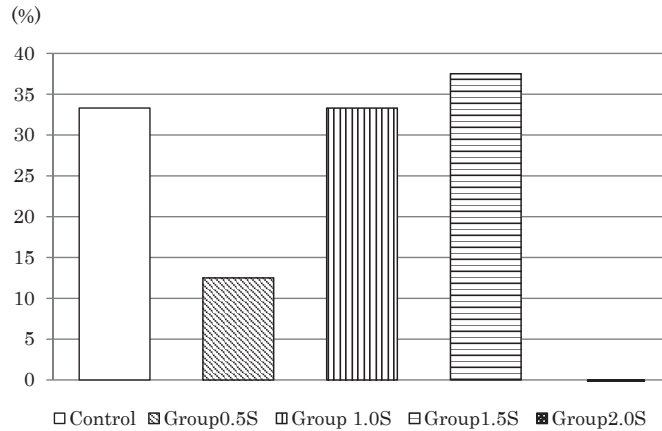


図 4a Incidence of arrhythmias during myocardial ischemia
The figure shows incidence of arrhythmias during myocardial ischemia.

Control: a control group (n=9)
 Group 0.5S: a continuous infusion of 0.5% sevoflurane group (n=8)
 Group 1.0S: a continuous infusion of 1.0% sevoflurane group (n=9)
 Group 1.5S: a continuous infusion of 1.5% sevoflurane group (n=8)
 Group 2.0S: a continuous infusion of 2.0% sevoflurane group (n=7)

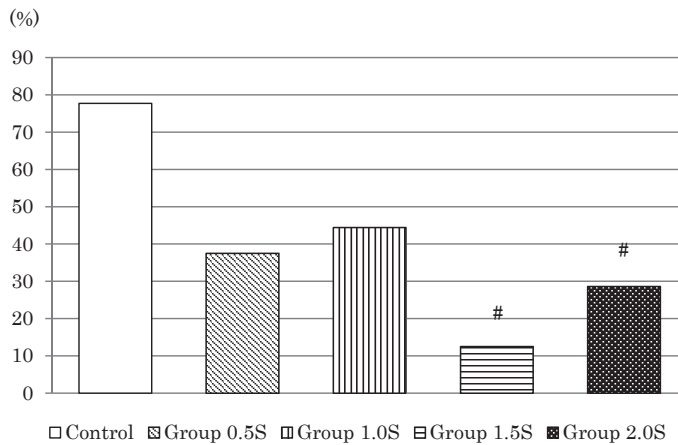


図 4b Incidence of arrhythmias during reperfusion
The figure shows incidence of arrhythmias during reperfusion.
Significantly different (P<0.05) from Group Control

Control: a control group (n=9)
 Group 0.5S: a continuous infusion of 0.5% sevoflurane group (n=8)
 Group 1.0S: a continuous infusion of 1.0% sevoflurane group (n=9)
 Group 1.5S: a continuous infusion of 1.5% sevoflurane group (n=8)
 Group 2.0S: a continuous infusion of 2.0% sevoflurane group (n=7)

域，虚血域，非虚血域の境界は透明アクリルシートに書き写し，スキャナーで取り込み，コンピューター処理により各々の面積の総和を計測し，虚血域の左心室に占める百分率および心筋梗塞サイズの虚血域に対する百分率を算出した。

5. 統計処理

各々の実験結果は平均値±標準誤差で示した。虚血域/左心室，心筋梗塞サイズ/虚血域の統計処理はKruskal-Wallis検定を用い，p<0.05で有意差が認められた場合にはDunn's procedureの多重比較検定を行い，p<0.05で有意差ありとした。心拍数，平均血圧，

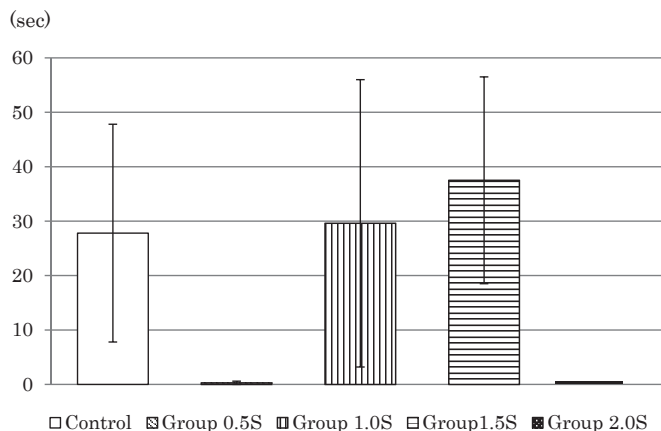


図 5a Duration of arrhythmias during myocardial ischemia
The figure shows duration of arrhythmias during myocardial ischemia.

Data are expressed as mean ± SEM.

Control: a control group (n=9)

Group 0.5S: a continuous infusion of 0.5% sevoflurane group (n=8)

Group 1.0S: a continuous infusion of 1.0% sevoflurane group (n=9)

Group 1.5S: a continuous infusion of 1.5% sevoflurane group (n=8)

Group 2.0S: a continuous infusion of 2.0% sevoflurane group (n=7)

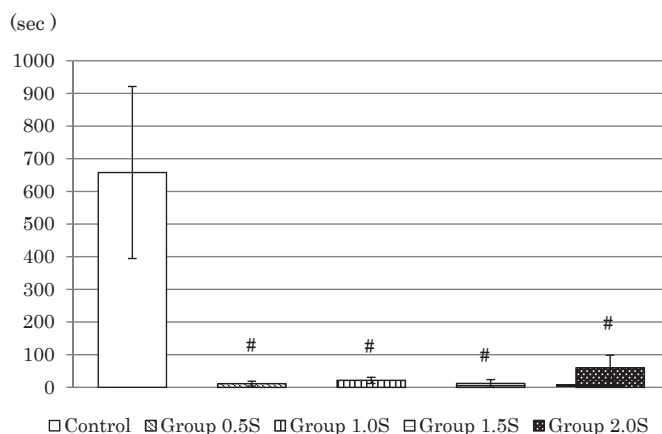


図 5b Duration of arrhythmias during reperfusion

The figure shows duration of arrhythmias during reperfusion.

Significantly different (P<0.05) from Group Control

Data are expressed as mean ± SEM.

Control: a control group (n=9)

Group 0.5S: a continuous infusion of 0.5% sevoflurane group (n=8)

Group 1.0S: a continuous infusion of 1.0% sevoflurane group (n=9)

Group 1.5S: a continuous infusion of 1.5% sevoflurane group (n=8)

Group 2.0S: a continuous infusion of 2.0% sevoflurane group (n=7)

RPPの各測定ポイントにおける群間の比較は一元配置分散分析を用い、 $p < 0.05$ にて有意差が認められた場合には、Fisher's PLSDの多重比較検定を行い、 $p < 0.05$ で有意差ありとした。また虚血不整脈、再灌流不整脈の発生率、発生時間の累計の検定は χ^2 検定を用い、

$p < 0.05$ で有意差ありとした。

結 果

1. 循環動態

循環動態は心拍数、平均血圧、RPPを指標とした。

心拍数, 平均血圧, RPPはすべてにおいて有意差はなかった(表1)。

2. 心筋梗塞サイズおよび虚血域

虚血域/左心室はコントロール群 $54.8 \pm 6.7\%$ と比較して他のすべての群で有意差はなかった(図2)。心筋梗塞サイズ/虚血域はコントロール群 $59.9 \pm 2.5\%$ と比較して0.5S群 $55.5 \pm 5.1\%$, 1.0S群 $40.2 \pm 2.5\%$, 1.5S群 $45.5 \pm 3.3\%$, 2.0S群 $52.0 \pm 2.5\%$ で, 1.0S群と1.5S群において有意に減少した(図3)。

3. 虚血・再灌流不整脈の発生率および発生時間

虚血不整脈の発生率は各群間で有意差はなかった(図4a)。再灌流不整脈の発生率はコントロール群77.7%と比較して, 1.5S群12.5%と2.0S群28.6%で有意に減少した(図4b)。

虚血不整脈発生時間の累計は各群間で有意差はなかった(図5a)。再灌流不整脈発生時間の累計はコントロール群 657.8 ± 263.4 秒と比較して0.5S群 11.4 ± 7.4 秒, 1.0S群 21.3 ± 9.4 秒, 1.5S群 11.9 ± 11.9 秒, 2.0S群 59.9 ± 38.6 秒とセボフルランを投与した全ての群で有意に減少した(図5b)。

考 察

心筋虚血再灌流後の心筋梗塞サイズは投与した全身麻酔薬により変化することが知られている¹⁴⁾。プロポフォールなどの静脈麻酔薬は心筋梗塞サイズに影響を及ぼさないが, セボフルランやイソフルランなどの吸入麻酔薬はATP感受性 K^+ チャンネルを開口させ, 虚血再灌流後の心筋梗塞サイズを縮小させることが指摘されている¹⁰⁻¹³⁾。また, 臨床研究において冠動脈バイパス手術における術後1年の死亡率が全静脈麻酔施行群12.3%と比較して, セボフルラン施行群で3.3%と有意に低値を示し, セボフルランによる心筋保護効果が示唆されている^{15,16)}。最近ではACC/AHA非心臓麻酔のための周術期心血管系評価と管理ガイドライン¹⁷⁾が発表され, 非心臓手術における全身麻酔維持にセボフルランなどによる吸入麻酔がclass II aで推奨されている。しかしプロポフォールと差がないとする臨床研究^{18,19)}もあり議論の余地がある。

本研究では全身麻酔薬による血圧低下, 頻脈への影響を出来るだけ避けるためAnimal Care & Use Program in Duke University & Medical Centerに従って, 基礎麻酔としてK/Xを用いた。ザイラジンは主に動物実験で頻用される α_2 アゴニストであり, 臨床で用いられているデクスメトミジンやクロニジンに類似する鎮痛鎮静剤である。また動物実験で多用されているケタミンは心筋保護のメカニズムの1つと考えられているATP感受性 K^+ チャンネルをブロックすることを

考慮しなければならない²⁰⁾。

今回, 基礎麻酔としてコントロールに用いたケタミンはラセミ体であり, エナチオマーであるR(-)ケタミンは, 細胞膜にあるATP感受性 K^+ チャンネルを抑制することが報告²¹⁾されている。したがって本研究では基礎麻酔薬そのものが心筋虚血再灌流障害を促進し, セボフルランによる心筋壊死縮小効果はその分だけ相殺されている可能性がある。

本研究では1.5%のセボフルランの持続投与がウサギにおいて最も心筋梗塞サイズを縮小させ, しかも心室性不整脈を抑制することを明らかにした。ウサギの1MACは $3.70 \pm 0.17\%$ で, ヒトのその約2.2倍に相当する²²⁾。予備実験において基礎麻酔にK/Xを用いると, 3.7%のセボフルラン曝露では循環抑制が生じ, 麻酔の維持が不可能であった。したがって本研究ではセボフルランの濃度を循環抑制が生じない程度の0.5~2.0%とした。今回曝露したセボフルランの濃度はMACに換算すると0.54MAC(2%), 0.41MAC(1.5%), 0.27MAC(1%), 0.14MAC(0.5%)となる。このことからヒトでは約0.7~0.9%程度の濃度が至適濃度であることが示唆される。現在用いられているプロポフォール/レミフェンタニル麻酔に0.5MAC程度のセボフルランを曝露させると心筋壊死縮小効果が得られる可能性が考えられる。またプロポフォール²³⁾はATP感受性 K^+ チャンネルに影響を及ぼさないのに対し, レミフェンタニル²⁴⁾は心筋に保護的に作用することから今後の臨床応用が期待される。しかし, 動物実験の結果を臨床で応用するには大規模な臨床研究を必要とするとは言うまでもない。セボフルランの濃度に関しては臨床的研究²⁵⁾からも1MACのセボフルランでは心臓バイパス手術を受けた患者で心筋保護効果がなかったことが報告されており, これはヒトでも1MAC以下の比較的低濃度のセボフルランでないと心筋保護が得られないことを示唆するものである。また, 投与時期に関しては心臓バイパス手術中にセボフルランを持続的に投与すべきという報告²⁶⁾や, 心臓手術後にICUで低濃度のセボフルランで鎮静することで再灌流後の障害を軽減させるという試みもすでになされている²⁷⁾。

本研究では虚血再灌流後の心筋梗塞サイズはTTCの染色法により計測した。この方法は心筋梗塞サイズを正確に計測する方法として広く用いられており, TTCで染色される部分は心筋内において脱水素酵素の活性が認められる心筋であるが, 壊死した心筋細胞では染色されない²⁸⁾。この方法の妥当性に関しては再灌流2~3時間後にTTC染色法で得られた心筋梗塞サイズを組織学的に測定した結果と差がないことが確

認されている²⁹⁾。以上を考慮して再灌流時間は3時間に設定し、その後心筋梗塞サイズを決定した。

心筋梗塞サイズを評価するためには側副血行路の存在を正確に把握することが必要である。Hearse DJら³⁰⁾は種々の動物の側副血行路の発達程度に関して詳細な検討を加えた。それによるとLADの血流を途絶した場合、非虚血域の血流に対する虚血域の血流の割合はイヌ15.9%、ラット6.1%に比較して、ウサギではほぼゼロで、これはヒトと類似する。すなわち側副血行路による虚血心筋への影響は少ないと考えられ、したがって本研究で得られたセボフルランによる心筋保護は側副血行路によるものではないと考えられる。

コントロール群と比較してセボフルランを投与した群で循環動態およびRPPの有意な差は認められなかったが、心筋壊死縮小効果は1.0%と1.5%セボフルラン群で認められた。これは心筋保護効果が心筋酸素需要量の低下によるものでないことを示唆するものである。また同様の実験系においてセボフルランの心筋壊死縮小効果が、ATP感受性K⁺チャンネルの拮抗薬であるグリベンクラミドや5-ハイドロキシ-デカノエート^{31,32)}によって消失したことから、細胞膜あるいはミトコンドリアにおけるATP感受性K⁺チャンネルの開口が一部関与している可能性が高い。

心筋の虚血後に再灌流を行うと心室性期外収縮(以下PVC)、心室頻拍(以下VT)、Vfなどの不整脈が出現することが知られている。この原因としては、活性酸素、Ca²⁺の代謝異常や過負荷が関与していることが報告されている^{33,34)}。本研究における虚血・再灌流不整脈はPVCが大部分を占め、VT、Vfはほとんどなかった。また不整脈は再灌流直後から20分以内に発生した。この結果はわれわれの研究室で過去に検討した報告^{35,36)}と同様であった。本研究では虚血不整脈の発生率や発生時間の累計はセボフルランにより抑制されなかったが、再灌流不整脈の発生率は1.5%と2.0%セボフルランにより有意に減少した。また、再灌流不整脈発生時間の累計はセボフルランを投与した全ての群で有意に減少した。以上より1.5%~2.0%セボフルランがウサギにおいて再灌流不整脈を最も抑制することが示唆される。臨床研究においてもセボフルランなどの揮発性麻酔薬は心筋虚血や心筋梗塞などで障害された心筋に対し、抗不整脈作用を有することが報告されている³⁷⁻⁴⁰⁾。また、揮発性吸入麻酔薬の中でもセボフルランによる抗不整脈作用が最強であることが示唆されている⁴¹⁾。今後臨床で用いるセボフルランの濃度も詳細に検討する必要がある。

結 語

*in vivo*虚血再灌流ウサギモデルにおいて1.0%と1.5%のセボフルランの虚血前からの持続投与により心筋保護効果が認められた。また、セボフルランは虚血不整脈の発生には影響を及ぼさないが、再灌流不整脈については1.5%と2.0%セボフルランが最も強力な抗不整脈作用を有することが明らかにされた。虚血再灌流後の心筋壊死縮小効果と抗不整脈作用を考慮すると1.5%セボフルランがウサギ心筋虚血再灌流障害を抑制する至適濃度であることが示唆された。

文 献

1. Tu L, Pan CS, Wei XH, Yan L, Liu YY, Fan JY, Mu HN, Li Q, Li L, Zhang Y, He K, Mao XW, Sun K, Wang CS, Han JY. Astragaloside IV protects heart from ischemia and reperfusion injury via energy regulation mechanism. *Microcirculation* **20**(8): 736-747, 2013.
2. Kojima A, Kitagawa H, Omatsu-Kanbe M, Matsuura H, Nosaka S. Sevoflurane protects ventricular myocytes against oxidative stress-induced cellular Ca²⁺ overload and hypercontracture. *Anesthesiology* **119**(3): 606-620, 2013.
3. Han Y, Zhao H, Tang H, Li X, Tan J, Zeng Q, Sun C. 20-hydroxyeicosatetraenoic Acid mediates isolated heart ischemia/reperfusion injury by increasing NADPH oxidase-derived reactive oxygen species production. *Circ J* **77**(7): 1807-1816, 2013.
4. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* **74**: 1124-1136, 1986.
5. Onishi A, Miyamae M, Kaneda K, Kotani J, Figueredo VM. Direct evidence for inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening by sevoflurane preconditioning in cardiomyocytes: comparison with cyclosporine A. *Eur J Pharmacol* **675**(1-3): 40-46, 2012.
6. Yoshida K, Maaieh MM, Shipley JB, Doloresco M, Bernardo NL, Qian YZ, Elliott GT, Kukreja RC. Monophosphoryl lipid A induces pharmacologic 'preconditioning' in rabbit hearts without concomitant expression of 70-kDa heat shock protein. *Mol Cell Biochem* **159**(1): 73-80, 1996.
7. Wagner C, Ebner B, Tillack D, Strasser RH, Weinbrenner C. Cardioprotection by ischemic postconditioning is abrogated in hypertrophied myocardium of spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* **61**(1): 35-41, 2013.
8. Chen D, Cheng B, Zhou HY, Li LH. The effect of sevoflurane postconditioning on cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in rabbits. *Mol*

- Biol Rep **39**(5): 6049–6057, 2012.
9. Tian YS, Rong TZ, Hong YL, Min L, Jian PG. Pharmacological postconditioning with diazoxide attenuates ischemia/reperfusion-induced injury in rat liver. *Exp Ther Med* **5**(4): 1169–1173, 2013.
 10. Cope DK, Impastato WK, Cohen MV, Downey JM. Volatile anesthetics protect the ischemic rabbit myocardium from infarction. *Anesthesiology* **86**(3): 699–709, 1997.
 11. Lamberts RR, Onderwater G, Hamdani N, Vreden MJ, Steenhuisen J, Eringa EC, Loer SA, Stienen GJ, Bouwman RA. Reactive oxygen species-induced stimulation of 5'AMP-activated protein kinase mediates sevoflurane-induced cardioprotection. *Circulation* **120**(11): S10–15, 2009.
 12. 丸山久雄, 吉田和希, 神田元彦, 古屋宗孝, 大澤昭義. 揮発性吸入麻酔薬が心筋虚血再灌流障害に及ぼす影響—*in vivo* ウサギモデルにおける検討—. *循環制御* **20**(3): 288–293, 1999.
 13. 吉田和希. 麻酔薬が心筋虚血再灌流障害に及ぼす影響. *日歯麻誌* **27**(3): 276–280, 1999.
 14. Haessler R, Kuzume K, Chien GL, Wolff RA, Davis RF, Van Winkle DM. Anaesthetics alter the magnitude of infarct limitation by ischaemic preconditioning. *Cardiovasc Res* **28**(10): 1574–1580, 1994.
 15. De Hert S, Vlasselaers D, Barbé R, Ory JP, Dekegel D, Donnadonna R, Demeere JL, Mulier J, Wouters P. A comparison of volatile and non volatile agents for cardioprotection during on-pump coronary surgery. *Anaesthesia* **64**(9): 953–960, 2009.
 16. De Hert SG, Van der Linden PJ, Cromheecke S, Meeus R, ten Broecke PW, De Blier IG, Stockman BA, Rodrigus IE. Choice of primary anesthetic regimen can influence intensive care unit length of stay after coronary surgery with cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* **101**(1): 9–20, 2004.
 17. Fleisher LA, Beckman JA, Brown KA, Calkins H, Chaikof E, Fleischmann KE, Freeman WK, Froehlich JB, Kasper EK, Kersten JR, Riegel B, Robb JF, Smith SC Jr, Jacobs AK, Adams CD, Anderson JL, Antman EM, Buller CE, Creager MA, Ettinger SM, Faxon DP, Fuster V, Halperin JL, Hiratzka LF, Hunt SA, Lytle BW, Nishimura R, Ornato JP, Page RL, Tarkington LG, Yancy CW. ACC/AHA 2007 guidelines on perioperative cardiovascular evaluation and care for noncardiac surgery. *Circulation* **116**(17): e418–499, 2007.
 18. Bignami E, Landoni G, Gerli C, Testa V, Mizzi A, Fano G, Nuzzi M, Franco A, Zangrillo A. Sevoflurane vs. propofol in patients with coronary disease undergoing mitral surgery: a randomized study. *Acta Anaesthesiol Scand* **56**: 482–490, 2012.
 19. Soro M, Gallego L, Silva V, Ballester MT, Lloréns J, Alvariño A, García-Perez ML, Pastor E, Aguilar G, Martí FJ, Carratala A, Belda FJ. Cardioprotective effect of sevoflurane and propofol during anaesthesia and the postoperative period in coronary bypass graft surgery: a double-blind randomized study. *Eur J Anaesthesiol* **29**(12): 561–569, 2012.
 20. Kozłowski RZ, Ashford ML. Barbiturates inhibit ATP-K⁺ channels and voltage-activated currents in CRI-G1 insulin-secreting cells. *Br J Pharmacol* **103**(4): 2021–2029, 1991.
 21. Kawano T, Oshita S, Takahashi A, Tsutsumi Y, Tanaka K, Tomiyama Y, Kitahata H, Nakaya Y. Molecular mechanisms underlying ketamine-mediated inhibition of sarcolemmal adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Anesthesiology* **102**(1): 93–101, 2005.
 22. Scheller MS, Saidman LJ, Partridge BL. MAC of sevoflurane in humans and the New Zealand white rabbit. *Can J Anaesth* **35**(2): 153–156, 1988.
 23. Kohro S, Hogan QH, Nakae Y, Yamakage M, Bosnjak ZJ. Anesthetic effects on mitochondrial ATP-sensitive K channel. *Anesthesiology* **95**(6): 1435–1440, 2001.
 24. Zhang Y, Irwin MG, Wong TM, Chen M, Cao CM. Remifentanyl preconditioning confers cardioprotection via cardiac kappa- and delta-opioid receptors. *Anesthesiology* **102**(2): 371–378, 2005.
 25. Piriou V, Mantz J, Goldfarb G, Kitakaze M, Chiari P, Paquin S, Cornu C, Lecharny JB, Aussage P, Vicaut E, Pons A, Lehot JJ. Sevoflurane preconditioning at 1 MAC only provides limited protection in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a randomized bi-centre trial. *Br J Anaesth* **99**(5): 624–631, 2007.
 26. De Hert SG, Van der Linden PJ, Cromheecke S, Meeus R, Nelis A, Van Reeth V, ten Broecke PW, De Blier IG, Stockmann BA, Rodrigus IE. Cardioprotective properties of sevoflurane in patients undergoing coronary surgery with cardiopulmonary bypass are related to the modalities of its administration. *Anesthesiology* **101**(2): 299–310, 2004.
 27. Orriach JL, Aliaga MR, Ortega MG, Navarro MR, Arce IN, Mañas JC. Sevoflurane in intraoperative and postoperative cardiac surgery patients. Our experience in intensive care unit with sevoflurane sedation. *Curr Pharm Des* **19**(22): 3996–4002, 2013.
 28. Klein HH, Puschmann S, Schaper J, Schaper W. The mechanism of the Tetrazolium reaction in identifying experimental myocardial infarction. *Virchow Arch* **393**: 287–297, 1981.
 29. Goto M, Miura T, Iliodoromitis EK, O'Leary EL, Ishimoto R, Yellon DM, Iimura O. Adenosine infusion during early reperfusion failed to limit myocardial infarct size in a collateral deficient species. *Cardio-*

- vasc Res **25**(11): 943-949, 1991.
30. Hearse DJ. Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischaemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. *Cardiovasc Res* **45**(1): 213-219, 2000.
 31. Hara T, Tomiyasu S, Sungsam C, Fukusaki M, Sumikawa K. Sevoflurane protects stunned myocardium through activation of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels. *Anesth Analg* **92**(5): 1139-1145, 2001.
 32. Mathur S, Farhangkhgoee P, Karmazyn M. Cardioprotective effects of propofol and sevoflurane in ischemic and reperfused rat hearts: role of K (ATP) channels and interaction with the sodium-hydrogen exchange inhibitor HOE 642 (cariporide). *Anesthesiology* **91**(5): 1349-1360, 1999.
 33. Bolli R. Mechanism of myocardial "stunning". *Circulation* **82**(3): 723-738, 1990.
 34. Tzivoni D, Keren A, Granot H, Gottlieb S, Benhorin J, Stern S. Ventricular fibrillation caused by myocardial reperfusion in Prinzmetal's angina. *Am Heart J* **105**(2): 323-325, 1983.
 35. Yoshida K, Takano H, Sawada H, Furuya M, Ohsawa A. Lidocaine protects the ischemic rabbit myocardium from infarction as well as from ventricular arrhythmias. *Am J Anesthesiol* **27**(7): 419-423, 2000.
 36. 高野宏文, 吉田和子. 心筋虚血再灌流不整脈とリドカインによる心筋保護効果—*in vivo*ウサギモデルにおける検討. *日歯麻誌* **26**(2): 224-233, 1998.
 37. Kroll DA, Knight PR. Antifibrillatory effects of volatile anesthetics in acute occlusion/reperfusion arrhythmias. *Anesthesiology* **61**(6): 657-661, 1984.
 38. Jang TL, MacLeod BA, Walker MJ. Effects of halogenated hydrocarbon anesthetics on responses to ligation of a coronary artery in chronically prepared rats. *Anesthesiology* **59**(4): 309-315, 1983.
 39. Gong JS, Yao YT, Fang NX, Li LH. Sevoflurane postconditioning attenuates reperfusion-induced ventricular arrhythmias in isolated rat hearts exposed to ischemia/reperfusion injury. *Mol Biol Rep* **39**(6): 6417-6425, 2012.
 40. Beppu H, Imaizumi U, Furuya M, Higuchi K, Yui H, Arisaka H, Yoshida K. Effects of Sevoflurane Exposure on Myocardial Infarction and Arrhythmia during Ischemia Reperfusion in *in vivo* Rabbit Hearts. *Circulation Control* **30**(2): 88-94, 2009.
 41. Regueiro-Purriños M, Fernández-Vázquez F, de Prado AP, Altónaga JR, Cuellas-Ramón C, Ajenjo-Silverio JM, Orden A, Gonzalo-Orden JM. Ventricular arrhythmias and mortality associated with isoflurane and sevoflurane in a porcine model of myocardial infarction. *J Am Assoc Lab Anim Sci* **50**(1): 73-78, 2011.